DIE CREATIN-PHOSPHO-KINASE-AKTIVITÄT IM SERUM UNTER VERSCHIEDENEN METHODISCHEN BEDINGUNGEN

Hanspeter Goldschmidt

1960

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545804_0068

Dissertations-Druck · Werner Blasaditsch · 8900 Augsburg · Annastraße 2

AUS DER I. MEDIZINISCHEN KLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN
Direktor: Prof. Dr. Herbert Schwiegk

DIE CREATIN-PHOSPHO-KINASE-AKTIVITÄT IM SERUM UNTER VERSCHIEDENEN METHODISCHEN BEDINGUNGEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Hanspeter Goldschmidt
aus
Lörrach

Jahr
1968

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität München

Berichterstatter: Dr. med. J. Karl
Mitberichterstatter: Prof. Dr. med. H. Schwiegk
Dekan: Prof. Dr. med. Fritz Holle

Tag der mündlichen Prüfung: 9. Juli 1968

Meinen Eltern in Dankbarkeit

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Einleitung	1
A. Literaturübersicht	
1. Die Creatin-Phospho-Kinase	1
2. Diagnostische Verwendung der Creatin-Phospho-Kinase	2
3. Methoden der Aktivitätsbestimmung	2
4. Haltbarkeit des Enzyms	4
B. Problemstellung	6
C. Experimenteller Teil	
I. Material und Methodik	
1. Das Material	7
2. Methode	8
II. Eigene Untersuchungen	
1. Creatin-Phospho-Kinase-Aktivität bei Normalpersonen	
a. männliche Normalpersonen	9
b. weibliche Normalpersonen	9
2. Creatin-Phospho-Kinase-Aktivität bei stationären Patienten	11
3. Änderung der Creatin-Phospho-Kinase-Aktivität bei stationärer Aufnahme der Patienten	12
4. Änderung der Creatin-Phospho-Kinase-Aktivität bei Stehenlassen des Serums	12
a. bei 37° C	
b. bei Zimmertemperatur, 18 - 20° C	
c. in Eiswasser	
5. Änderung der Creatin-Phospho-Kinase-Aktivität bei Einfrieren des Serums bei -20° C	15
6. Patienten mit endokrinen Erkrankungen	
a. Hypothyreose	18

Seite

b. Hyperthyreose 18

c. Hypogonadismus 19

D. Diskussion 20

I. Kritik der benutzten Methode 20

II. Besprechung der Ergebnisse

1. Creatin-Phospho-Kinase-Aktivität bei Normalpersonen 22

2. Creatin-Phospho-Kinase-Aktivität bei stationären Patienten 23

3. Die Creatin-Phospho-Kinase-Aktivität bei stationärer Aufnahme der Patienten 24

4. Die Stabilität der Creatin-Phospho-Kinase 25

5. Patienten mit endokrinen Erkrankungen 28

E. Zusammenfassung 30

Literaturverzeichnis 33

Abkürzungen 37

Die Bestimmung der Creatin-Phospho-Kinase (CPK) - Aktivität im Serum wurde in den letzten Jahren ein wichtiges diagnostisches Hilfsmittel bei Muskelerkrankungen. Mit dem Wissen über chemische und biochemische Eigenschaften der CPK stieg auch die Anzahl der Methoden, ihre Aktivität zu bestimmen. Wir haben uns die Aufgabe gestellt, erstens die Normalwerte bei verschiedenen Personengruppen und die Änderung der CPK-Aktivität bei verschiedenen Aufbewahrungsarten, also unter verschiedenen methodischen Bedingungen zu untersuchen. Und zweitens die CPK-Aktivität bei Patienten mit endokrinen Erkrankungen zu messen, bei denen eine veränderte CPK-Aktivität zu erwarten war.

A. Literaturübersicht

1. Die Creatin-Phospho-Kinase

1934 fand LOHMANN (25) das Enzym Creatin-Phospho-Kinase, das die Reaktion ADP + CP $\longrightarrow$ ATP + P katalysiert, und LEHMANN (24) entdeckte 1935 die Umkehrbarkeit dieser Reaktion. Im nicht ermüdeten, ruhenden Gewebe stellt das Creatinphosphat eine Energiereserve dar. Die funktionelle Bedeutung der Creatin-Phospho-Kinase liegt in der Erhaltung der ATP-Konzentration auf Kosten des Creatinphosphats. Das Enzym kommt daher vor allem in Geweben vor, in denen große ATP-Mengen in kurzer Zeit verbraucht werden, also in der Muskulatur und im Nervensystem. Bei genügend großen Creatin-Phosphat-Reserven wird in diesen Organen Dank der hohen CPK-Aktivität die Ruhe-ATP-Konzentration auch nach größerem Energieverlust rasch wieder hergestellt. BANGA (3) gelang 1943 eine teilweise Reinigung des Enzyms. Nach verschiedenen Versuchen zur Reingewinnung der CPK gibt ASKONAS (2) 1951 eine Methode zur technischen Reinigung des Enzyms an, und KUBY (23) kristallisierte 1954 das Enzym aus Kaninchenmuskulatur. Es folgten verschiedene Arbeiten über die Zusammensetzung des Enzyms, seine Wirkungsweise und den Ort seiner Wirkung (9, 32, 42). Eine eingehende chemische Aufklärung des Enzyms erfolgte wiederum aus Kaninchen-Skelettmuskulatur (28). 1963 wurde eine nochmalige Reinigung des Enzyms aus Ochsenhirn beschrieben (44). Ebenfalls 1963 entdeckten BURGER, EPPENBERGER et al. (5, 6, 16) drei verschiedene Creatin-Phospho-Kinasen und rechneten deshalb die CPK zu den Isoenzymen. Sie stellten deutliche Unterschiede im Enzymmuster der einzelnen Organe und auch deutliche Altersunterschiede bei der CPK der

Ratte fest. SJÖVALL und VOIGT (41) fanden 1964 vier verschiedene Enzyme, die ebenfalls CPK-Eigenschaften hatten.

2. Diagnostische Verwendung der Creatin-Phospho-Kinase

Nachdem EBASHI et al. (12) 1959 zum ersten Mal die Messung der Serum-CPK-Aktivität als diagnostisches Hilfsmittel benutzt hatten, fanden sie abnorme Erhöhungen bei einem großen Prozentsatz von Patienten mit progressiver Muskeldystrophie vom Duchenne-Typ. Andere Untersucher bestätigten diese Ergebnisse (9, 21, 29) und erweiterten die diagnostischen Möglichkeiten. Sie fanden erhöhte Werte bei Krankheiten, bei denen das Muskelgewebe betroffen ist. Bei Dermatomyositis (9, 21), bei Hypothyreose (17, 18), nach Herzoperationen (34). Bei Herzinfarkt hat die Bestimmung der CPK-Aktivität bereits einen festen Platz in der Diagnostik eingenommen (10, 11, 37, 39). OLDERSHAUSEN et al. (30) fanden erhöhte Werte bei Gewohnheitstrinkern im Verlauf des Delirium tremens' als biochemisches Korrelat der im Delirium auftretenden Muskelschmerzen, bei mit Anoxie einhergehender bakterieller Meningitis, bei Hypokalidämie, bei Diphterie, Scharlach, Toxoplasmose, Mononukleose und Coxsackie-Viruserkrankungen. Der CPK-Aktivitätsanstieg war festzustellen, bevor EKG bzw. EMG, sowie die sonstigen klinischen Untersuchungen an Herz- und Skelettmuskulatur Veränderungen erkennen ließen. KAFFARNIK et al. (22) gibt an, daß nach einem Verkehrsunfall mit Muskelquetschung eine Erhöhung der CPK auf das Zehnfache gemessen wurde.

3. Methoden der Aktivitätsbestimmung

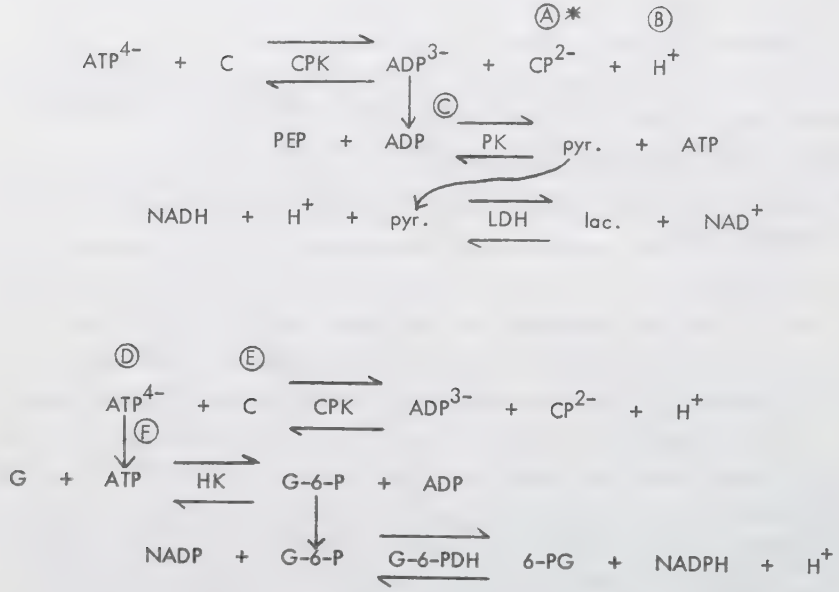
In der Literatur ist eine große Anzahl verschiedener Methoden zur Bestimmung der CPK-Aktivität im Serum beschrieben. Je nachdem in welche Richtung man die durch die CPK katalysierte Reaktion ablaufen läßt, können die verschiedenen Komponenten des Reaktionsgemisches als Indikatoren der Enzymaktivität verwendet werden. So kann man im allgemeinen zwei Arten von Methoden unterscheiden: Erstens die direkten, die ein durch die Reaktion gebildetes Produkt oder eine übertragene Gruppe (Creatin, Phosphat, H^+) direkt messen, und zweitens die indirekten Methoden, in denen eine oder mehrere Hilfsreaktio-

nen mit der CPK-Reaktion gekoppelt werden, und ein daraus entstandenes Produkt, das sich stöchiometrisch zu einer Komponente der CPK-Reaktion verhält, gemessen und die CPK-Aktivität bestimmt wird. Creatin kann man kolorimetrisch in Gegenwart von α-naphtol und -diacetyl bestimmen, anorganisches Phosphat läßt sich mit Ammoniummolybdat nachweisen, und H^+ wird titrimetrisch bestimmt. Die indirekten Methoden basieren auf der Änderung der optischen Dichte im letzten Schritt der mit der CPK-Reaktion gekoppelten Reaktion. Die Extinktionsabnahme ist der CPK-Aktivität proportional.
Wir möchten mit einem Schema die in der Literatur angegebenen und gebräuchlichsten Methoden aufzeigen:

Abkürzungen:

C: Creatin, CP: Creatin-Phosphat, CPK: Creatin-Phospho-Kinase, HK: Hexo-Kinase, G-6-PDH: Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase, PK: Pyruvat-Kinase, LDH: Lactat-Dehydrogenase, ATP und ADP: Adenosin-Tri-und Diphosphat, PEP: Phospho-Enol-Pyruvat, pyr.: pyruvat, lac.: lactat, G: Glucose, G-6-P: Glucose-6-Phosphat, 6-PG: 6-Phosphogluconat, NADP und NADPH: Nicotin-amid-Adenosin-Dinucleotid-Phosphat in oxidierter und reduzierter Form, NAD und NADH: Nicotinamid-Adenosin-Dinucleotid in oxidierter und reduzierter Form.

Figur 1: Methoden zur Aktivitätsbestimmung der CPK



* Literatur:

A: 2, 23

B: 8, 26

C: 9, 39, 42

D: 40

E: 10, 13, 14, 15, 21, 42

F: 7, 27, 31, 38

4. Haltbarkeit des Enzyms

Mit der Erweiterung der diagnostischen Möglichkeiten und dem Anwachsen der Zahl der Untersuchungsmethoden von Enzymen stellte man fest, daß die Enzyme eine unterschiedliche Stabilität besitzen, und daß es nicht gleichgültig ist, in welcher Zeit nach der Blutentnahme die Aktivitätsbestimmungen durchgeführt werden. COLOMBO et al. (9) geben an, daß bei durch die Post zugestellten Seren von Patienten mit Verdacht auf Herinfarkt die CPK nur bei pathologischem Ausfall zu beurteilen ist. Das Einfrieren ist nur bei stark erhöhten Aktivitäten zulässig, ein Aktivitätsverlust fällt dann kaum ins Gewicht. Bewegt sich die Aktivität der Seren aber an der oberen Grenze der Norm, so ergeben konservierte Seren unzuverlässige Werte. ROTTHAUWE et al. (36) nennt die Serum-CPK das instabilste aller diagnostisch wichtigen Serumenzyme. Eine Bestimmung der Serum-CPK ist nur dann sinnvoll, wenn das bald nach der Blutentnahme gewonnene Serum sofort analysiert oder aber im Eisbad bzw. in der Tiefkühltruhe aufgehoben wird. Aber auch dann sollte die Bestimmung innerhalb der ersten sechs bzw. 24 Stunden erfolgen, zumal wenn es sich um normale Seren oder solche mit geringer Aktivität handelt. Bestimmungen von Einsendematerial sind wertlos. Auch gibt ROTTHAUWE an, daß die Stabilität der einzelnen Enzyme sehr unterschiedlich zu beurteilen ist. AMELUNG et al. behaupten (1), daß die Stabilität der Serum-Fermente in folgender Reihenfolge abnimmt: Amylase - alkalische Phosphatase - Glutamat-Dehydrogenase - GOT - GPT - LDH - SDH - saure Phosphatase - CPK. Während die Aktivität der meisten Fermente bei Aufbewahrung im Kühlschrank bzw. in der Kühltruhe weniger schnell absinkt als bei Zimmertemperatur, ist der Aktivitätsverlust der LDH bei Zimmertemperatur geringer als in der Kälte. Mit Ausnahme der CPK ist die Aktivität der klinisch bedeutsamen Serum-Fermente so stabil, daß die Aktivitätsbestimmung bis zu sechs Stunden nach der Blutentnahme ohne merklichen Fehler durchgeführt werden kann. Die Befunde, die von verschiedenen Autoren mit dem gleichen Enzym erhalten wurden, differieren beträchtlich. Zum Teil sind die Messungen bei Normalseren, zum Teil bei Seren mit pathologisch erhöhter CPK oder nur speziell bei Seren von Patienten mit Muskeldystrophie durchgeführt worden (1, 9, 18, 19, 20, 22, 27, 33, 36). Wir möchten deshalb die verschiedenen Ergebnisse in einer Tabelle zusammenstellen. Die Werte sind angegeben in Prozent des Ausgangswertes, der als 100 % angenommen wurde.

Tabelle 1: CPK-Aktivitätsverlust bei verschiedenen Aufbewahrungsarten, Angaben aus der Literatur

Zeit	Zimmertemp. 18 - 25° C	Eiswasser 0 - 4° C	Kühlschrank 4° C	Kühltruhe -10 - -18° C
6 Std.	99% (27) 45% (36) 70-50% (1)	keine Aktivitäts-änderung(36)	85% (36)	keine nennens-werte Änderung (36)
12 Std.	60% (33)		85% (33)	99% (33)
24 Std.	79% (9) 25% (36) 38% (33) 50-25% (1)		89% (9) 50% (22) 65% (36) 40% (33)	95% (9) 85% (33)
1-3 Tg.			leicht vermindert (9) 75-50% (19) 90% (36) 75-50% (20) 90-75% (1)	
4 Tg.	30% (33)		40% (33)	85% (33)
1 Woche	20% (36)		35% (36)	75% (36)
4 Wochen				keine wesent-liche Änderung (18)

B. Problemstellung

Aus der Literatur ersehen wir, daß die Forschung über die CPK in drei mehr oder weniger miteinander verbundene Richtungen geht: Erstens die Eigenschaften chemischer und biochemischer Natur der CPK weiter zu erforschen, zweitens ihre diagnostische Anwendbarkeit zu erweitern, und drittens die Zuverlässigkeit und Empfindlichkeit der Methoden zu erhöhen.

Bei CPK-Aktivitätsbestimmungen von Normalpersonen, von Patienten mit verschiedenen Erkrankungen und bei Versuchen, das Serum bis zur Aktivitätsbestimmung auf verschiedene Art und Weise aufzubewahren, erhielten wir Werte, die uns veranlaßten, uns mit den Methoden zur Aktivitätsbestimmung, ihrer Empfindlichkeitserhöhung, den Normalwerten der CPK und der Haltbarkeit des Enzyms zu beschäftigen. Außerdem sahen wir uns durch eine Arbeit von GRAIG und SMITH (18), die erhöhte CPK-Aktivität bei hypothyreoiden Patienten fanden, veranlaßt, die CPK-Aktivität bei Patienten zu messen, deren endokrine Erkrankung mit ihrer klinischen Symptomatik eine Änderung der CPK-Aktivität erwarten ließ.

C. Experimenteller Teil

I. Material und Methodik

1. Das Material

Die benutzte Methode lehnt sich an die Angaben von TANZER und GILVARG (42), COLOMBO et al. (9), STICH und TSIRIMBAS (39) an, und ist als "Biochemica-Test-Combination" bei der Firma BOEHRINGER & SOEHNE, Mannheim, als fertige Testpakkung erhältlich.

Kennwort: TC-V, Artikel-Nr. 15992 für 10 Bestimmungen.

Eine Packung enthält:

a. Reagentien:

1. Creatin
2. Glycin
3. Magnesiumchlorid, p.a., $MgCl_2$
4. Phosphoenol-pyruvat, PEP, Cyclohexylammoniumsalz
5. Reduziertes Nicotinamid-Adenosin-Dinucleotid, NADH
6. Adenosin-5-Triphosphat, ATP, Na-Salz
7. Lactat-Dehydrogenase, LDH
8. Pyruvat-Kinase, PK

b. Konzentration der Lösungen: 1. 2 M Glycin-Puffer, pH = 9,0; 0,001 M NADH; 0,006 M ATP; 0,002 M Phosphoenol-pyruvat;

2. 2 mg LDH/ml; 2 mg PK/ml; 0,5 M $MgCl_2$

3. 0,1 M Glycin-Puffer, pH = 9,0; 0,063 M Creatin;

4. 0,1 M Glycin-Puffer, pH = 9,0;

Für jeden Versuch wurden 2 ml Serum benötigt, je 1 ml für Leer- und Hauptwert. Das Serum stammte von Studenten und Krankenhauspersonal oder wurde Patienten abgenommen.

2. Methode

Das Blut wurde den Untersuchungspersonen durch Venenpunktion abgenommen. Nachdem das Blut geronnen war - Dauer 1/2 - 1 Std. -, trennten wir das Serum durch halbstündiges Zentrifugieren bei 4500 - 5000 Umdreh/min. ab. Die Messung der CPK-Aktivität erfolgte jedesmal genau zwei Stunden nach der Blutentnahme und wurde nach der in jeder "Biochemica-Text-Combination" vorliegenden Beschreibung durchgeführt. Abweichend davon wurde eine Inkubations- und Meßtemperatur von 37° C $\pm$ 0,5° C benützt, um dadurch die Empfindlichkeit des Testes bzw. die Aktivität der CPK zu steigern (9). Zur UV-Messung benutzten wir ein Photometer EPPENDORF mit thermostabilem Cuvettenhalter, Direktschreiber und wenn zur Verfügung mit Wechselautomatik. Sonst wurde alle zwei Minuten abwechselnd der Leerwert und der Hauptwert in den Strahlengang gebracht. Der Wechsel von 2 Minuten schien uns gerechtfertigt, da die Reaktion linear verläuft. Die Abnahme der Extinktion wurde bei 366 µm gemessen. Sämtliche angegebenen Werte stellen die Mittelwerte aus mindestens zwei Messungen dar, die gleichzeitig gemessen wurden. Bei den Messungen der Aktivitätsänderung der CPK wurde das Serum bei 37° C im Wasserbad, bei Zimmertemperatur, 18 - 20° C, und im Eiswasser in offenen Glasröhrchen aufbewahrt. Zum Einfrieren in der Kühltruhe bei -20° C kam das Serum in festverschlossene Kunststoffläschchen. Die Menge war jedesmal so bemessen, daß der Inhalt eines Fläschchens nur für einen Versuch reichte. Die Messungen, aus denen der Mittelwert berechnet wurde, stammten al-

so aus verschiedenen Fläschchen. Die Unterschiede waren sehr gering. Aufgetautes Serum wurde nicht nochmals eingefroren. Die CPK-Aktivität bestimmten wir immer sofort nach dem Auftauen. Aufgetaut wurde das Serum, wenn nicht anders angegeben, in einem Wasserbad von 37° C. Bei einer Vergleichsreihe tauten wir das Serum in Eiswasser und in einem Wasserbad von 25° C gleichzeitig auf.
Der Test hat eine Fehlerbreite von ± 5 % (4).

II. Eigene Untersuchungen

1. CPK-Aktivität bei Normalpersonen

Die Normalpersonen hatten keine Erkrankungen der Herzmuskulatur, Myopathien oder irgendwelche endokrine Erkrankungen. Außerdem durften sie keine größeren körperlichen Anstrengungen während der letzten 24 Stunden vor der Untersuchung unternehmen. Sie waren auch keinen starken psychischen Belastungen ausgesetzt gewesen. Geringe körperliche Arbeit und relativ geringe Anstrengungen, wie sie im täglichen Leben auftreten, genügen zwar, um einen leichten Anstieg der CPK-Aktivität zu provozieren, waren aber erlaubt, da wir ja die Werte von Normalpersonen wollten. Das Durchschnittsalter der untersuchten Personen betrug 28 Jahre, wobei das niedrigste 22 Jahre und das höchste Alter 85 Jahre war.

a. männliche Normalpersonen

Es wurden 23 männliche Normalpersonen untersucht, die einen Mittelwert von $\bar{x} \pm 2\sigma$ = 0,95 ± 1,16 µMol/1000 ml/ min aufwiesen.

b. weibliche Normalpersonen

Es wurden 16 weibliche Normalpersonen untersucht, deren Mittelwert $\bar{x} \pm 2\sigma = 0,93 \pm$ 0,96 µMol/ 1000 ml/ min betrug.

Die einzelnen Werte der Normalpersonen sind in Tabelle 2 aufgeführt.

Tabelle 2: CPK-Aktivität bei Normalpersonen. CPK-Aktivität ist in µMol/ 1000 ml/ min bei 37° C angegeben.

Name	Alter	Geschlecht	CPK-Aktivität
S.B.	24	m	0,8
G.H.	24	m	1,7
J.H.	26	m	1,64
D.R.	30	m	0,8
S.P.	24	m	1,11
E.W.	27	m	1,43
H.W.	26	m	0,53
H.H.	30	m	0,42
S.E.	25	m	1,32
M.E.	25	m	1,54
B.K.	24	m	0,74
H.K.	85	m	0,42
G.F.	55	m	0,48
A.H.	30	m	1.06
J.S.	25	m	0,58
L.G.	25	m	0,85
H.M.	24	m	0,8
F.M.	26	m	0,0
K.B.	23	m	0,85
R.Z.	25	m	1,11
E.R.	24	m	2,12
W.K.	24	m	1,11
B.H.	23	m	0,53
H.B.	23	f	1,48
R.H.	25	f	0,58
E.H.	27	f	1,59
A.E.	27	f	1,11
E.K.	57	f	1,22
A.A.	23	f	0,37
G.U.	22	f	0,58
H.A.	24	f	0,0
S.U.	30	f	0,48
H.G.	27	f	1,17
R.S.	23	f	0,53
G.K.	23	f	1,6
I.M.	23	f	0,9
B.F.	37	f	1,43
H.Z.	30	f	1,11
U.M.	23	f	0,74

2. CPK-Aktivität bei stationären Patienten

Die stationären Patienten litten unter keiner Erkrankung der Herzmuskulatur, Myopathie oder einer endokrinen Erkrankung. Untersucht wurden 28 Patienten. Wir erhielten dabei einen Mittelwert von $\bar{x} \pm 2\sigma = 0,40 \pm 0,82$ µMol/ 1000 ml/min. Die einzelnen Werte sind in Tabelle 3 aufgeführt.

Tabelle 3: CPK-Aktivität bei stationären Patienten. CPK-Aktivität ist in µMol/ 1000 ml/min bei 37° C angegeben.

Name	Alter	Geschlecht	Diagnose	CPK-Aktivität
D.F.	17	m	Rachitis	0,53
K.G.	49	m	chron. Hepatitis	0,37
S.D.	54	m	Cholangitis	0,0
P.K.	63	m	Arteriosklerose	0,0
K.T.	68	m	Diabetes m.	0,0
S.J.	38	m	Ulcus ventr.	0,0
D.H.	42	f	Hepatitis	0,0
U.M.	18	f	Neurasthenie	0,74
S.J.	51	f	Herzvitium	0,8
H.I.	46	f	chron. Hepatitis	0,32
N.M.	52	f	Ulcus ventr.	0,0
P.T.	61	f	Diabetes m.	0,0
S.S.	52	f	Cholecystitis	0,37
H.A.	52	f	Magen Ca	0,0
G.K.	46	f	Cholangitis	0,0
H.G.	33	f	Herzvitium	0,53
H.A.	85	m	Arteriosklerose	0,42
A.M.	55	m	Policythaemie	0,48
D.M.	30	m	Gastritis	1,06
Z.I.	37	f	Adipositas	1,43
B.E.	53	f	Cholecystitis	0,21
S.E.	26	f	Cystovar	0,42
T.M.	17	f	Thrombopenie	1,06
U.S.	16	f	Herzvitium	0,37
S.A.	27	f	Mongolismus	0,53
L.L.	47	m	Lebercirrhose	0,27
H.G.	47	m	Hepatitis	0,95
Z.E.	37	m	Cholecystitis	0,42

3. Änderung der CPK-Aktivität bei stationärer Aufnahme der Patienten

Bei sieben Patienten wurde am ersten Tag ihrer stationären Aufnahme in die Klinik die Aktivität der CPK bestimmt. Die Patienten sind so ausgesucht worden, daß ihre Erkrankung keinen Einfluß auf die Aktivität der CPK ausübte. Es lagen auch alle Werte innerhalb der Norm. Nach fünf Tagen wurde die CPK-Bestimmung wiederholt. Alle Werte waren nun niedriger, und zwar betrugen sie im Durchschnitt noch 45 % des Ausgangswertes.

4. Änderung der CPK-Aktivität bei Stehenlassen des Serums

a. bei 37° C

b. bei Zimmertemperatur, 18 - 20° C

c. in Eiswasser

Die Seren stammten mit zwei Ausnahmen von Normalpersonen oder stationären Patienten. Zweimal wurde die CPK-Aktivität durch größere sportliche Tätigkeit am Vortage erhöht.

Die Änderungen der CPK-Aktivität sind in Tabelle 4 zusammengefaßt und in Prozent des Ausgangswertes angegeben. Der Ausgangswert, den wir als 100 % annahmen, entstand immer genau zwei Stunden nach der Blutabnahme.

Wir sehen aus dieser Tabelle und aus den nachfolgenden Kurven in Figur 2, daß nicht nur ein Aktivitätsverlust aufgetreten ist, sondern auch ein zum Teil recht erheblicher Anstieg der Aktivität, vor allem bei Aufbewahrung des Serums in Eiswasser! Die Aktivität zeigt immer zuerst ein Absinken und dann ein mehr oder weniger starkes Ansteigen.

Die Aktivitätsanderungen sind aber bei Aufbewahrung des Serums bei 37° C und bei Zimmertemperatur (18 - 20° C) geringer als bei Aufbewahrung in Eiswasser.

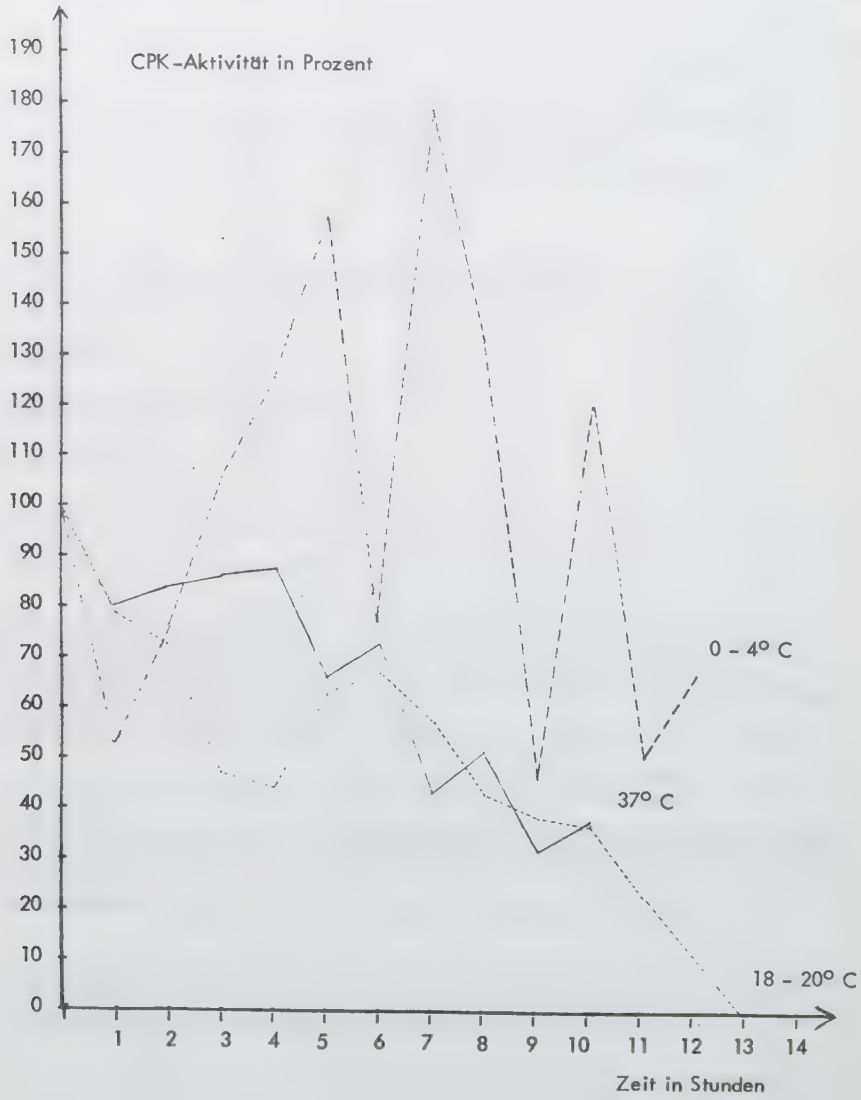
Tabelle 4: Änderung der CPK-Aktivität bei verschiedenen Aufbewahrungsarten, 37° C, 18 - 20° C, 0 - 4° C.

Aufbewahrung bei:	37° C	18 - 20° C	0 - 4° C
Zahl d. u. Pers.:	10	6	5
Ausgangswert:	100 %	100 %	100 %
1 Std.	80 %	79 %	53 %
2 Std.	83 %	72 %	76 %
3 Std.	85 %	47 %	104 %
4 Std.	86 %	43 %	125 %
5 Std.	67 %	62 %	157 %
6 Std.	72 %	67 %	78 %
7 Std.	42 %	58 %	179 %
8 Std.	51 %	42 %	132 %
9 Std.	31 %	38 %	46 %
10 Std.	38 %	37 %	120 %
11 Std.		21 %	50 %
12 Std.		24 %	67 %
13 Std.		0 %	

Bei zwei Personen, die einen Ausgangswert der CPK-Aktivität von null hatten, ließen wir das Serum ebenfalls bei 37° C stehen und bestimmten stündlich die CPK-Aktivität. Nach drei Stunden war eine geringe Aktivität meßbar, die aber wieder abfiel, doch nach sechs Stunden konnte man einen deutlichen Anstieg der CPK-Aktivität beobachten, der dann bis zur neunten Stunde langsam abfiel und auf null blieb.

Die in Tabelle 4 angeführten Mittelwerte sind in Figur 2 als Kurven eingezeichnet.

Figur 2: Änderung der CPK-Aktivität bei verschiedenen Aufbewahrungsarten, 37°C, 18 - 20°C, 0 - 4°C, graphisch.



5. Änderung der CPK-Aktivität bei Einfrieren des Serums bei -20° C.

Die Seren stammten von Normalpersonen und stationären Patienten. Es wurden zuerst 20 Vergleichsmessungen durchgeführt, bei Seren, die mehrere Tage bei -20° C eingefroren waren und dann gleichzeitig in Eiswasser und im Wasserbad von 25° C aufgetaut wurden. Bei der sofort anschließenden Aktivitätsbestimmung ergaben sich beim Serum von gleichen Personen teilweise recht unterschiedliche Werte. Sie sind in Tabelle 5 aufgeführt:

Tabelle 5: Unterschiedliche CPK-Aktivität des eingefrorenen Serums nach Auftauen in Eiswasser und in Wasser von 25° C. Die CPK-Aktivität ist in µMol/ 1000 ml/min bei 37° C angegeben.

Ausgangswert	Zeit bei -20° C,	aufgetaut bei 25° C,	Eiswasser
1,11	2 Tg.	1,42	1,38
	6 Tg.	1,38	1,11
	13 Tg.	1,64	1,22
	20 Tg.	0	0
2,12	2 Tg.	2,17	2,17
	5 Tg.	1,38	2,49
	9 Tg.	2,86	1,6
	22 Tg.	1,6	1,06
0,74	14 Tg.	1,6	1,75
	20 Tg.	1,06	0,69
	30 Tg.	1,27	1,38
	35 Tg.	0	0
3,0	13 Tg.	3,0	3,0
	20 Tg.	3,23	3,0
	29 Tg.	2,28	2,44
	34 Tg.	1,17	1,17
0,9	2 Tg.	0,85	0,74
	6 Tg.	0,64	0,69
	13 Tg.	2,28	0,42
	28 Tg.	1,6	1,0

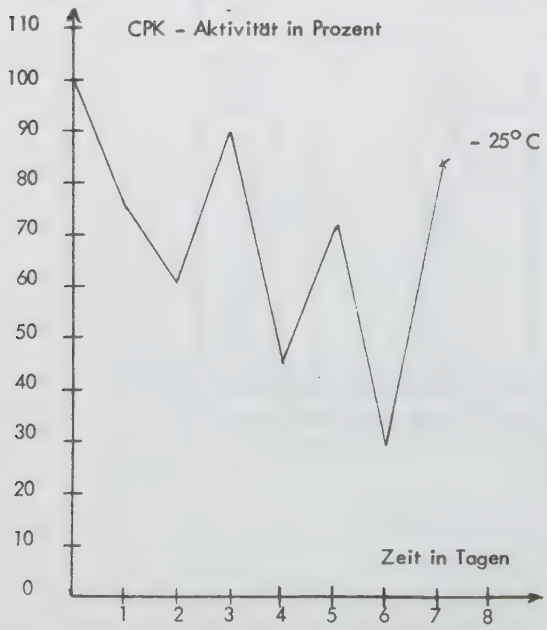
Da wir keine Gesetzmäßigkeit im unterschiedlichen Verhalten der CPK-Aktivität bei den verschiedenen Auftauarten erkennen konnten, wurden alle Seren der folgenden Versuche im Wasserbad von 37° C aufgetaut.

Bei fünf Personen wurde die CPK-Aktivität bestimmt, Serum eingefroren und dann die CPK-Aktivität täglich gemessen. Die erhaltenen Werte sind in Tabelle 6 zusammengefaßt und in Figur 3 graphisch dargestellt. Die CPK-Aktivität ist in Prozent des Ausgangswertes angegeben. Die aufgeführten Werte sind die Durchschnittswerte der fünf untersuchten Personen.

Tabelle 6:
Änderung der CPK-Aktivität
bei Einfrieren des Serums
bei -25° C

Ausgangswert:	100 %
1. Tag	75 %
2. Tag	61 %
3. Tag	89 %
4. Tag	43 %
5. Tag	71 %
6. Tag	28 %
7. Tag	87 %

Figur 3: Änderung der CPK-Aktivität bei Einfrieren des Serums bei -20° C, graphisch.



Bei 114 Normalpersonen, stationären Patienten und Patienten mit endokrinen Erkrankungen, deren Seren wir ebenfalls bei -20° C eingefroren hatten, konnten wir nur Stichproben durchführen, da die Menge des Serums nicht ausreichte, um die CPK-Aktivität über längere Zeit täglich zu messen. Die so erhaltenen Werte sind in Tabelle 7 zusammengefaßt und die CPK-Aktivität in Prozent des Ausgangswertes angegeben.

Tabelle 7: Änderung der CPK-Aktivität bei Einfrieren des Serums bei -20° C, Stichproben.

Tg.	Zahl d.u.Pers.	CPK	Tg.	Zahl d.u.Pers.	CPK-Aktivität
1	5	75 %	25	0	
2	9	94 %	26	0	
3	7	70 %	27	1	0 %
4	7	142 %	28	2	70 %
5	7	54 %	29	1	78 %
6	8	104 %	30	1	178 %
7	8	122 %	31	0	
8	2	118 %	32	1	59 %
9	3	124 %	33	1	90 %
10	4	163 %	34	2	80 %
11	2	57 %	35	3	112 %
12	5	63 %	36	0	
13	5	139 %	37	1	114 %
14	4	131 %	38	1	193 %
15	3	174 %	39	0	
16	3	86 %	40	1	145 %
17	2	0 %			
18	0		43	1	156 %
19	2	206 %			
20	4	113 %	48	1	0 %
21	0				
22	3	152 %	50	1	0 %
23	1	220 %			
24	1	100 %	55	1	0 %

Aus dieser Tabelle ist erkenntlich, daß durch das Einfrieren und Auftauen nicht nur Aktivitätsverluste sondern auch Aktivitätssteigerungen bis über das Doppelte des Ausgangswer-

tes hinaus auftreten können.

Bei einigen Patienten hatten wir Gelegenheit, mehrmals Blut abzunehmen und die CPK-Aktivität nach dem Einfrieren zu kontrollieren. Dabei ergab sich, daß bei einigen dieser Personen unabhängig von der Dauer der Einfrierung gehäuft ein höherer Wert als der Ausgangswert zu finden war, ohne daß ein Zusammenhang mit der Erkrankung oder eine sonstige Ursache erkenntlich war.

Bei fünf Personen, die einen Ausgangswert von null hatten, erhielten wir, nachdem das Serum eingefroren und wieder aufgetaut war, einen gut meßbaren Wert.

Vergleicht man bei allen Aufbewahrungsarten die Absolutwerte der Aktivitätsänderungen, so sieht man, daß alle Werte, auch die erhöhten, innerhalb der 2 σ -Grenze bleiben, also nicht pathologisch werden, mit Ausnahme der Werte, die an der oberen Grenze der Norm liegen und in Eiswasser oder bei - 20° C aufbewahrt wurden. Bei Aufbewahrung bei 37° C oder Zimmertemperatur konnte auch bei Aktivitätssteigerung keine Überschreitung der Grenze vom Normalen zum Pathologischen beobachtet werden.

6. Patienten mit endokrinen Erkrankungen

a. Hypothyreose

Es wurden fünf Patienten mit klinisch gesicherter Hypothyreose untersucht, dabei erhielten wir bei drei Patienten Normalwerte aber auch bei zwei Patienten erhöhte Werte von 4,5 und 3,07 µMol/1000 ml/min bei 37° C. Bei allen fünf Patienten wurde während ihrer Behandlung mit "Thybon" oder "Thyreo-Mack" wiederholt Kontrollen der CPK-Aktivität durchgeführt, doch konnten keine Veränderungen in der CPK-Aktivität festgestellt werden, die eindeutig auf die Wirkung dieser Therapie zurückzuführen sind.

b. Hyperthyreose

Drei Patienten mit leichter Hyperthyreose hatten Werte, die im Bereich der Norm lagen.

c. Hypogonadismus

Vier Patienten mit Hypogonadismus verschiedener Ursache hatten ebenfalls CPK-Aktivitäten, die zu den Normalwerten zu zählen sind. Durften die Patienten tagsüber längere Zeit aufstehen und herumgehen, so reagierten sie mit einer leichten Erhöhung der CPK-Aktivität, die aber auch bei Normalpersonen zu beobachten ist.

Die Einzelwerte der Patienten mit endokrinen Erkrankungen sind in Tabelle 8 aufgeführt.

Tabelle 8: CPK-Aktivität bei Patienten mit endokrinen Erkrankungen.
CPK-Aktivität ist in µMol/1000 ml/min bei 37° C angegeben.

Name	Alter	Geschlecht	Diagnose	PBJ	CPK-Aktivität
K.S.	66	f	Hypothyreose	1,8 γ%	0,0
R.M.	45	f	Hypothyreose	1,8 γ%	1,06
S.K.	20	f	Hypothyreose	3,8 γ%	4,5
R.H.	24	f	Hypothyreose	1,7 γ%	0,85
G.G.	12	f	Hypothyreose	1,2 γ%	3,07
M.L.	44	f	Hyperthyreose		0,0
S.M.	41	f	Hyperthyreose		0,0
L.A.	24	f	Hyperthyreose		1,64
O.G.	17	m	Anorchie		0,0
B.A.	27	m	Hypogonadismus		0,0
H.E.	28	m	Hypogonadismus		1,33
S.K.	20	f	Gonadendysgenesie		1,59

D. Diskussion

I. Kritik der benutzten Methode

Bei der Beschreibung von Aktivirätsbestimmungen der CPK werden in der Literatur unterschiedliche Angaben über den Zeitpunkt der Abtrennung des Serums vom Blutkuchen gemacht. ROTTHAUWE et al (36) trennen genau nach 30 Minuten ab, während AMELUNG et al (1) und GRAIG (18) das Serum erst nach 1 - 2 Stunden abtrennen. Eine Begründung hierfür wurde nirgends gegeben. Wir trennten das Serum etwa 1/2 - 3/4 Stunde nach der Blutentnahme ab, da das Blut zu diesem Zeitpunkt so geronnen war, daß bei der Zentrifugation keine Hämolyse mehr auftrat. Die Zeit von einer halben Stunde für die Zentrifugation bei 4000 - 5000 Umdreh./min kann auf zehn Minuten verkürzt werden. Wir wollten sicher sein, daß keine Zellbestandteile mehr im Serum vorhanden sind. Erythrozyten sind zwar praktisch frei von CPK, so daß Hämolyse den CPK-Test nicht prinzipiell stört (39), doch hätten beim Zerfall der Zellen freiwerdende Stoffe auf die Aktivität der CPK einwirken können.

Wir haben eine Versuchstemperatur von 37° C gewählt, weil COLOMBO et al. (9) als Temperaturoptimum für die Reaktionen der CPK 37° C angegeben haben. Höhere Temperaturen führen zu einem raschen Abfall der Reaktionsgeschwindigkeit. Der Leerwert zeigt einen Anstieg der Aktivität bis zu 45° C. Das Hilfs- und Indikatorensystem beeinflußt den Reaktionsabfall der CPK bei Temperaturen über 37° C nicht. ROTTHAUWE et al. (35), die ihre Messungen ebenfalls bei 37° C durchführten, gaben an, daß bei einer Steigerung der Temperatur um 10° C die Reaktionsgeschwindigkeit im optischen Test um etwas mehr als das Doppelte zunahm. Wir führten selbst einige Versuche durch, bei denen wir die CPK-Aktivität von einem Serum gleichzeitig bei 25° C und bei 37° C in zwei verschiedenen Meßgeräten gleichzeitig bestimmten. Die bei 37° C gemessenen Werte waren jedesmal etwa um das 2,4-fache höher als die bei 25° C erhaltenen Werte. Dies entspricht auch dem Unterschied, den man rein rechnersich erhalten würde, wenn die Reaktionstemperatur um 12° C erhöht wird. Der Extinktionskoeffizent von NADH ändert sich beim Wechsel von 25° C zu 37° C nur so geringfügig, daß diese Änderung bei der Fehlerbreite des Testes von ± 5 % nicht beachtet werden muß (Mitteilung der Firma Boehringer). Die Substanzen und die Konzentrationen der Test-Combination zur Bestimmung der CPK-Aktivität

sind auch geeignet für die Messung bei 37° C.

Obwohl die UV-Methode eine gute Genauigkeit und Reproduzierbarkeit bei wiederholten Messungen ergab, außerdem leicht zu handhaben ist, so hat sie doch einige Nachteile. Die erhaltenen Werte sind immer sehr niedrig oder null, vor allem bei Normalpersonen. Primär erniedrigte Werte können damit nicht festgestellt werden. Bei Verfolgung von Krankheitsverläufen kann man nicht mit Sicherheit Aktivitätsänderungen, vor allem Aktivitätsabnahmen feststellen, die auf eine Krankheit oder die verabreichten Medikamente zurückzuführen sind, wenn nicht gerade ein sehr von der Norm abweichender Wert nach oben auftritt. Die Aktivität der CPK läßt sich steigern durch Zugabe von sulfhydrylhaltigen Substanzen wie z.B. Cystein, reduziertes Glutathion zum Versuchsansatz (7, 15, 18, 21). Die kolorimetrischen Aktivitätsbestimmungen über das in der Rückreaktion gebildete Creatin benutzten diese Substanzen und haben deshalb auch viel höhere Werte für die CPK-Aktivität. ROTTHAUWE et al. (35) geben an, daß reduziertes Glutathion die Aktivität auf das Doppelte, aber auch auf das Fünffache steigert, was möglicherweise auf dem unterschiedlichen Eigengehalt der Seren an aktivierenden Substanzen beruht. Die von STEIN und LAMPRECHT (38) angegebene Methode hat eine achtfach gesteigerte Empfindlichkeit gegenüber dem UV-Test von BOEHRINGER. Dieser UV-Test hat auch den Nachteil, daß er für jede CPK-Bestimmung 2ml Serum benötigt, was besonders dann ins Gewicht fällt, wenn man vom gleichen Serum Reihenmessungen vornehmen möchte. Hier sind die kolorimetrischen Methoden vorzuziehen, weil man keine negativen Werte erhält und wegen der großen Empfindlichkeit der Creatinbestimmung den Vorteil hat, nur 0,01 - 0,02 ml Serum pro 0,8 ml Ansatz zu benötigen. Doch haben sie gegenüber den optischen Tests den Nachteil, daß sie für die Einzelbestimmungen einen wesentlich größeren Zeitaufwand gebrauchen. Sie sind vor allem geeignet für Serienuntersuchungen (11, 18, 35). Aktivitätsbestimmungen über das in der Vorwärtsreaktion gebildete Creatin-Phosphat sind zwar möglich, doch brauchen sie noch mehr Serum als der UV-Test, außerdem ist das Creatin-Phosphat eine sehr labile Substanz. Für Inhibitorstudien sind zusammengesetzte optische Tests ungeeignet, da die Einwirkung auf alle daran beteiligten Reaktionen geschehen kann. CHO et al. (8) geben eine titrimetrische Methode an, die nicht abhängig ist vom Gebrauch anderer Enzymsysteme und sich deshalb für Inhibitorstudien eignet. Leider war es uns nicht möglich, die verschiedenen Methoden selbst auszuprobieren und sie dann miteinander zu vergleichen.

II. Besprechung der Ergebnisse

1. CPK-Aktivität bei Normalpersonen

Es erwies sich als schwierig, Normalwerte für die CPK-Aktivität bei Normalpersonen aufzustellen. Obwohl eine relativ empfindliche Methode benutzt wurde, lagen die Werte an der Grenze der Meßbarkeit. Die Genauigkeit der Messung ist durch die Stabilität des Photometers und die Trägheit des Direktschreibers begrenzt. Negative Werte für die Differenz der Extinktion von Hauptwert und Leerwert sind daher nicht auszuschließen. Allerdings fanden wir Werte von Null oder durch die technische Streuung bedingte negative Werte bei Normalpersonen relativ selten, während sie bei stationären Patienten häufig waren.

Die physiologische Variabilität des Enzyms als Folge körperlicher Tätigkeit und psychischer Belastung fordert idealerweise eine praktisch nicht realisierbare Blutentnahme unter Basalbedingungen, da laut RICHTERICH (9) die CPK, verglichen mit anderen Enzymen (GOT, LDH, Aldolase), am empfindlichsten auf körperliche Belastungen reagiert. Nicht nur schwere Anstrengungen, sondern bereits die normalen physischen Belastungen des täglichen Lebens lassen die CPK-Aktivität - wenn auch nur geringfügig - ansteigen. Man muß dies bei der Behandlung ambulanter Patienten wissen und entsprechend berücksichtigen (4).

Die einzelnen Werte zeigen keine Normalverteilung, sondern eine leichte Verzerrung der Verteilung in Richtung der pathologischen Werte, doch ist die Asymmetrie der Verteilung sehr gering, es ist deshalb gerechtfertigt, die Verteilung als normal anzusehen und die Normalwerte aus dem Mittelwert und der Standardabweichung zu berechnen (9).

Unsere gefundenen Mittelwerte für Normalpersonen entsprechen in etwa denen, die von RICHTERICH und ROSSI (9) angegeben wurden. Wir möchten uns ihrer Meinung anschließen, daß man unter Ausschluß von körperlichen Anstrengungen die Werte 2 µMol/1000ml/min/37° C, bei ambulanten Patienten bis zu 2,7 µMol/1000ml/min/37° C, und bei körperlichen Anstrengungen (wir erhielten Werte bis zu 4 µMol/1000ml/min/37° C) bis zu 5 µMol/1000ml/min/37° C als obere Norm gelten dürfen. Liegen die Werte höher, so haben sie unbedingt als pathologisch zu gelten.

DREYFUSS et al (10), HUGHES (21), NIELSEN et al. (27) und PRESTON et al. (33) fanden Unterschiede in der CPK-Aktivität zwischen männlichen und weiblichen Normalpersonen. Der Durchschnitt lag bei Frauen wesentlich niedriger als bei den Männern. HUGHES (21) machte die geringere Muskelmasse der Frauen für diesen Unterschied verantwortlich. Unsere Untersuchungen ergaben keine wesentlichen Unterschiede in der CPK-Aktivität zwischen männlichen und weiblichen Normalpersonen, da sowohl der Mittelwert als auch die Standardabweichung annähernd gleich waren. Auch sprachen unsere Beobachtungen nicht für einen offensichtlichen Zusammenhang zwischen Muskelmasse und CPK-Aktivität, denn dann müßten auch männliche Personen mit geringer Muskelmasse eine geringere CPK-Aktivität besitzen, was wir nicht feststellen konnten.

Die Körpergewicht - CPK-Aktivität - Relation stimmte auch nicht bei den weiblichen Normalpersonen, denn die höchsten Werte erhielten wir von Frauen mit relativ geringem Körpergewicht. Wir halten es für wahrscheinlich, daß bei dem Normalwert der CPK-Aktivität der Trainingszustand der Skelettmuskulatur die Hauptrolle spielt. Wenn für gleiche Leistungen weniger energiereiches Phosphat übertragen werden muß, so ist auch die CPK-Aktivität geringer. Ein Zusammenhang zwischen Alter und CPK-Aktivität war nicht zu erkennen. Auch HESS et al. (20) konnten keine Beziehung zwischen CPK-Aktivität, Alter und Geschlecht in der Allgemeinverteilung finden.

Als schwierig erwies sich auch, die gefundenen Werte der CPK-Aktivität mit denen anderer Autoren zu vergleichen, da sie nicht nur in verschiedenen Einheiten angegeben sind, sondern auch durch die Vielzahl der Untersuchungsmethoden und durch die Verwendung von Aktivatoren sehr variieren. Die Werte von spektrophotometrischen Methoden lassen sich nicht mit denen von kolorimetrischen Methoden vergleichen.

2. CPK-Aktivität bei stationären Patienten

Das Durchschnittsalter der untersuchten Personen betrug 42 Jahre. Ein Zusammenhang zwischen Alter, Geschlecht und CPK-Aktivität ließ sich auch hier nicht erkennen. Gegenüber dem von COLOMBO et al. (9) angegebenen Mittelwert für die entsprechende Untersuchungsgruppe liegt der von uns gefundene Wert etwas höher, was vielleicht daran liegt,

daß wir die in dieser Gruppe relativ zahlreich aufgetretenen negativen Werte als Nullwerte angesehen und auch so berechnet haben. GRAIG und SMITH (18), die für Krankenhauspatienten auch einen etwas erniedrigten Mittelwert gegenüber dem von gesunden Leuten fanden, führten dies darauf zurück, daß die meisten ihrer untersuchten Patienten Frauen waren, oder daß kranke Personen allgemein leicht erniedrigte Werte haben. Den Grund für den wesentlich erniedrigten Mittelwert gegenüber dem der Normalpersonen sehen wir nicht in der Krankheit, sondern allein in der Bettruhe. Die stationären Patienten müssen keine körperlichen Leistungen mehr vollbringen, im Muskelgewebe wird weniger Energie verbraucht, also muß auch weniger energiereiches Phosphat vom Creatinphosphat auf das ADP übertragen werden, um ATP zu bilden, die Aktivität der CPK geht damit auch zurück. Versuche ergaben nämlich, daß sich die CPK-Werte wieder erhöhten, wenn man die Patienten wieder aufstehen ließ. Die Aktivität blieb dann einigermaßen konstant, wenn keine neuen Belastungen für die Patienten auftraten. Da die Streuungsbreite der Werte von 0 - 1,43 µMol/1000ml/min/37° C auch annähernd gleich der bei Normalpersonen ist, halten wir es trotz des wesentlich niedrigeren Mittelwertes für gerechtfertigt, auch für stationäre Patienten erst dann von pathologischen Werten zu sprechen, wenn sie über 2 µMol/1000ml/min/37° C liegen, eine vorausgegangene körperliche Anstrengung ausgeschlossen.

3. Die CPK-Aktivität bei stationärer Aufnahme der Patienten

Der Abfall der CPK-Aktivität von 100 % auf 45 % innerhalb von fünf Tagen bei stationärer Aufnahme der Patienten entspricht etwa dem Unterschied der Mittelwerte von Normalpersonen und stationären Patienten, wo der Mittelwert der Patienten etwa 42 - 43 % des Wertes von Normalpersonen ausmachte. Auch diese Tatsache spricht dafür, daß der Abfall der CPK-Aktivität hier nicht durch Krankheit oder Medikamente sondern allein durch die Bettruhe bedingt wurde. Es wurden auch keine unterschiedlichen Reaktionen, die vom Alter oder Geschlecht der Patienten abhingen, beobachtet.

4. Die Stabilität der CPK

Vergleicht man die in der Literatur angeführten Ergebnisse über die Aktivitätsänderung der CPK bei verschiedenen Aufbewahrungsarten, so findet man wenig Übereinstimmung. Von manchen Autoren wird eine sehr große Schwankungsbreite angegeben, die wir auch beobachten konnten und die es problematisch erscheinen läßt, von Mittelwerten zu sprechen. Diese großen Schwankungen müssen aber ihre Ursache in den verschiedenen Seren haben bzw. in dem großen physiologischen Unterschied der CPK-Aktivität bei den einzelnen Personen. Zum Teil haben wir außer dem Doppelwert, den wir immer gemessen haben, die Werte an verschiedenen Geräten gleichzeitig geprüft und eine gute Übereinstimmung erhalten. Unsere Werte liegen zum Teil im Streuungsbereich der von anderen Autoren angegebenen Werte, doch konnten wir bei allen Reihen und auch bei den Stichproben immer wieder Ergebnisse erhalten, die nicht durch eine Aktivitätsminderung, sondern durch eine Aktivitätssteigerung verursacht worden waren. Diese Erscheinung ist bisher nicht beschrieben worden, auch liegen diese Ergebnisse zum Teil in den Zeiträumen, in denen andere Autoren nicht gemessen haben. Bei allen Kurven der Aktivitätsänderung bei Aufbewahrung bei 37° C, 18 - 20° C, 0 - 4° C, -20° C konnte man jedesmal in der ersten Zeit ein Absinken der CPK-Aktivität beobachten, dem wieder ein Ansteigen der Aktivität folgte, zum Teil sogar über den Ausgangswert hinaus. Im weiteren Zeitverlauf fiel die Aktivität dann mit mehr oder weniger großen Zacken ab. Interessant ist, daß die Kurven von 37° C, 18 - 20° C und 0 - 4° C bei sechs und neun Stunden nach der ersten Messung ganz gut übereinstimmen, die Kurven von 37° C und 18 - 20° C von der sechsten Stunde ab fast gleich verlaufen und die Kurven der im Eiswasser und in der Kühltruhe aufbewahrten Seren die größten Schwankungen zeigen. Auch bleiben Normalwerte von Seren, die bei 37° C und bei Zimmertemperatur aufbewahrt wurden, auch bei Aktivitätsänderung immer im 2 σ -Bereich. Nur Werte an der oberen Grenze der Norm überschritten die Grenze zum Pathologischen, wenn das Serum in Eiswasser gehalten oder bei -20° C eingefroren wurde.

Bei der UV-Methode kann eine Extinktionsänderung bzw. die Änderung der Differenz der Extinktion von Haupt- und Leerwert und daraus berechnet die Aktivitätsänderung des Enzyms ihre Ursache darin haben, daß sich im Versuch der Hauptwert, damit die Aktivität, oder der Leerwert ändert. Wir haben daraufhin die Ergebnisse überprüft und gesehen, daß

sich in einigen Fällen der Leerwert konstant gehalten hat, meist änderten sich im Laufe der Untersuchungsreihe der Leerwert und der Hauptwert, doch war in keinem Fall eine aus der Extinktionsdifferenz berechnete Aktivitätsänderung auf eine Änderung allein des Leerwertes zurückzuführen. Der Hauptwert änderte sich immer stärker. Wir müssen also die Ursachen für die Aktivitätsänderung beim Enzym selbst oder bei dessen Aktivatoren oder inhibitoren suchen.

Bei den Messungen nach Einfrieren des Serums bei -20° C bestand zum Teil ein wesentlicher Unterschied darin, ob in Eiswasser oder im Wasserbad von 25° C aufgetaut wurde, wie Vergleichsmessungen zeigten. Doch konnten wir keine Gesetzmäßigkeit in den unterschiedlichen Werten erkennen und tauten deshalb das Serum bei den anderen Versuchen im Wasserbad von 37° C auf. Wir fanden in der Literatur auch keine Angaben, wie andere Autoren, die ähnliche Versuche unternahmen, beim Auftauen des gefrorenen Serums vorgingen. Die Größe der Aktivitätsänderung war unabhängig von der Höhe des Ausgangswertes, was auch AMELUNG (1) feststellte. Doch traten bei einigen Personen gehäuft erhöhte Werte auf, unabhängig von der Dauer der Einfrierung. Einen Zusammenhang mit der Erkrankung konnten wir nicht erkennen. HESS et al. (19, 20) stellten allerdings fest, daß der Aktivitätsverlust bei Herzinfarktpatienten größer ist als bei Patienten mit Muskeldystrophie unter denselben Bedingungen. Bei allen diesen Untersuchungen wurde nicht berücksichtigt, daß mit der Alterung der Enzyme eine Verschiebung der optimalen Substratkonzentration stattfinden kann. Nach ROTTHAUWE et al. (36) dürfte die Instabilität der Serum-CPK auf eine Inaktivierung von Thiolgruppen im Enzymmolekül beruhen. Der Zusatz von sulfhydrylhaltigen Stoffen wie Cystein und Glutathion steigert die Aktivität und kann auch die Inaktivierung verdünnter Enzymlösungen wenigstens teilweise verhindern. Sie stellten auch fest, daß bei Seren, deren Aktivität nach mehrtägiger Aufbewahrung im Kühlschrank stark abgesunken war, durch Zusatz von reduziertem Glutathion etwa 80 - 90 % der Ausgangsaktivität (ebenfalls bei Anwesenheit von Glutathion gemessen) wieder erreicht werden konnte. Doch verzichteten sie auf einen routinemäßigen Zusatz von reduziertem Glutathion, da es eine sehr labile Substanz ist, und da die Ergebnisse nicht hinreichend reproduzierbar waren. Auf einer besseren Stabilisierung von Thiolgruppen dürfte auch die Beobachtung beruhen, daß der Aktivitätsverlust der CPK wesentlich geringer ist, wenn man das Serum nicht abtrennt, sondern über dem Blutkuchen stehen läßt. Deshalb empfehlen sie, auch bei ambulanten Patienten das Untersuchungsmaterial als Vollblut möglichst in Eiswasser ins Laboratorium zu bringen.

Eine Inaktivierung der Thiolgruppen innerhalb des Enzymmoleküls würde zwar einen Aktivitätsverlust der CPK erklären, nicht aber eine Aktivitätszunahme. Unserer Meinung nach müssen innerhalb des Serums mit der Alterung des Enzyms bzw. des Serums Stoffe entstehen, die über freie Sulfhydrylgruppen verfügen, und die dann eine Aktivitätssteigerung der CPK hervorrufen. Es könnte sein, daß Inhibitoren des Enzyms oder Inhibitoren der Isoenzyme oder Moleküle mit Schwefelbrücken durch die Aufbewahrung des Serums bei verschiedenen Temperaturen oder durch die Einfrierung und das Auftauen mehr leiden als das Enzym selbst, plötzlich zerfallen und durch freie Sulfhydrylgruppen das Enzym seine Aktivität wieder entfalten kann oder aktiviert wird, eine Aktivität, die sogar wesentlich höher als die Ausgangsaktivität sein kann. Für das plötzliche Auftreten solcher Stoffe oder das Zerfallen von Inhibitoren spricht auch die Tatsache, daß verschiedene Seren, die über Stunden oder vor dem Einfrieren keinen meßbaren Ausgangswert hatten, plötzlich einen Wert aufwiesen oder nach dem Auftauen ein meßbares Ergebnis zeigten, ohne daß dem Serum irgend etwas zugesetzt wurde. Diese Aktivitäten zeigten dann im weiteren Verlauf ebenfalls ein Absinken der Aktivität, wie es bei den anderen Kurvenverläufen zu sehen war. Die unterschiedliche Reaktion im Ansteigen der Aktivität dürfte wohl im unterschiedlichen Gehalt der Seren an sulfhydrylhaltigen Stoffen oder Inhibitoren bestehen.

Es wäre nun interessant, mit größeren Serien festzustellen, ob wirklich offensichtliche Unterschiede in der Aktivitätsänderung der CPK bei verschiedenen Krankheiten zu erkennen sind, und ob von diesen Aktivitätsänderungen auf die entsprechenden Krankheiten geschlossen werden kann. Die Frage ist auch deshalb interessant, weil in den verschiedenen Organen nicht gleich viel CPK-Aktivität anzutreffen und auch das Enzymmuster verschieden ist. Außerdem wäre es lohnend, der Natur der Stoffe nachzugehen, die im einzelnen für den Aktivitätsverlust und die Aktivitätssteigerung der CPK bei Aufbewahrung des Serums verantwortlich sind. Man könnte dies wahrscheinlich durch eine Auftrennung des Serums erreichen, wenn man die einzelnen Fraktionen immer dann untersucht, nachdem eine CPK-Aktivitätsänderung stattgefunden hat.

Eine Möglichkeit nachzuweisen, daß die aktivierenden Substanzen im Serum vorhanden sind, wäre die folgende: Von zwei verschiedenen Seren, deren Ausgangsaktivität bekannt ist und die auf das Einfrieren unterschiedlich reagiert haben, mit Aktivitätssteigerung und Aktivitätsverlust, macht man ein 1 : 1 Gemisch und bestimmt die CPK-Aktivität. Rein

rechnerisch müßte die Aktivität dieses Gemisches genau der Mittelwert der Einzelaktivitäten sein. Sind aber zumindest in dem einen Serum Aktivatoren vorhanden, so wird sehr wahrscheinlich die gemessene Aktivität nicht dem zu erwartenden Mittelwert entsprechen, da die Aktivatoren des einen Serums die CPK des anderen Serums wahrscheinlich mitaktivieren werden.

Für die Bestimmung der CPK-Aktivität ergibt sich, daß die Messung sofort nach Gerinnung und anschließender Zentrifugation durchgeführt werden sollte. Bei Aufbewahrung des Serums bei 37° C und bei Zimmertemperatur treten Aktivitätsverluste auf, die aber bis zur achten Stunde nach der Blutentnahme durch eine Aktivitätssteigerung unterbrochen sein kann, sogar über den Ausgangswert hinaus. Allerdings bleiben die Werte im Bereich der Norm. Nur Werte, die ursprünglich nicht sehr stark erhöht waren, können übersehen werden, da ein Aktivitätsverlust aufgetreten ist. Von einer Aufbewahrung im Eiswasser oder in der Kühltruhe würden wir abraten, da die erhaltenen Werte unzuverlässig sind. Die Aktivitätssteigerungen und Aktivitätsverluste treten zu unregelmäßig auf, um von den erhaltenen Werten auf die ursprünglichen schließen zu können. Bei pathologisch sehr erhöhten Werten mag dies nicht so bedeutsam sein, aber gerade bei Seren, deren Werte an der oberen Grenze der Norm liegen, können durch mögliche Aktivitätssteigerungen pathologische Werte vorgetäuscht werden. Eine Aufbewahrung der CPK hat also nur dann einen Sinn, wenn es gelingt, die Aktivität konstant zu halten oder zu verhindern, daß sie sich mehr als nur geringfügig ändert.

5. Patienten mit endokrinen Erkrankungen

GRAIG und SMITH (18), die zur Untersuchung der CPK-Aktivität die Methode von HUGHES (21) benutzten, fanden bei hypothyroiden Patienten deutlich erhöhte Werte, während sie bei hyperthyroiden Patienten erniedrigte Werte fanden. Doch war hier die Abweichung vom Normalwert nicht so auffallend wie bei den hypothyroiden Patienten. Sie fanden auch, daß Patienten mit Hypo- und Hyperthyreose Normalwerte bekommen, wenn sie entsprechend behandelt wurden, so daß daraus auf eine gute Korrelation zwischen Serum-Enzym-Aktivität und Schilddrüsenfunktion geschlossen werden konnte. Sie sahen es als wahrscheinlich an, daß die Änderung der CPK-Aktivität auf der allgemeinen Wirkung

der Schilddrüsenhormone auf die anabolen und katabolen Prozesse beruht, oder auf die Änderung in der Freisetzung dieser Enzyme aus dem Muskel zurückzuführen ist. HESS et al. (20), die zu ihren Untersuchungen die UV-Methode benützten, fanden bei drei Patienten mit Muskelschwäche und Hyperthyreose normale Werte, obwohl japanische Forscher erhöhte Werte gefunden hatten. Bei fünf Patienten mit Hypothyreose hatten alle außer einem normale Werte. GRAIG und ROSS (17) berichteten von erhöhter CPK-Aktivität bei zehn von 15 hypothyroiden Patienten (zitiert nach 20).

Die Anzahl der von uns untersuchten Patienten ist zu gering, um etwas aussagen zu können, doch decken sich die Befunde mit denen, die von HESS (20) erhoben wurden, der auch die gleiche Methode zur Untersuchung wie wir benutzte. Allerdings darf man nicht übersehen, daß von fünf von uns untersuchten Patienten mit Hypothyreose doch zwei Patienten eine deutlich pathologische CPK-Aktivitätserhöhung aufwiesen. Davon war eine Patientin sicher noch nicht vorbehandelt gewesen. Bis jetzt ist es noch ungeklärt, welches die Ursache für eine Steigerung der CPK-Aktivität bei manchen Patienten mit Hypothyreose ist. Diagnostisch spielt eine CPK-Aktivitätssteigerung bei Hypothyreose noch keine Rolle, da sie offenbar nicht in jedem Falle auftritt. Wir fanden auch keinen Zusammenhang zwischen Therapie und CPK-Aktivität, der die CPK-Aktivitätsmessung als Kontrolle des Thyreoidstatus geeignet erscheinen ließe. Doch sind hier noch weitere Untersuchungen notwendig.
Mit den Befunden von GRAIG und SMITH (18) konnten wir unsere Werte nicht vergleichen, weil sie dort eine dem Wesen nach andere Methode zur Bestimmung der CPK-Aktivität benutzt hatten.

Änderungen der CPK-Aktivität bei Patienten mit Hypognadismus sind unseres Wissens in der Literatur nicht beschrieben worden. Wir konnten auch keine Abweichungen von den Normalwerten feststellen. Diese Patienten reagierten auch normal nur mit einer kleinen CPK-Erhöhung auf kleinere Anstrengungen.

Bei der Beurteilung von Patienten spielt auch eine Rolle, daß uns nur Patienten zur Verfügung standen, die in eine Universitätsklinik aufgenommen wurden. Das bedeutet, daß die Patienten in den meisten Fällen schon irgendwo eine Behandlung durchgemacht haben, die den Wert unserer Untersuchungsergebnisse unter Umständen beeinträchtigen konnte. Um

gültige Ausgangswerte zu erhalten und um auch die Wirkung verschiedener Medikamente auf die CPK-Aktivität beschreiben zu können, sollte man nur unbehandelte Patienten untersuchen.

E. Zusammenfassung

Es wurde eine kurze Literaturübersicht über die Funktion und die chemische Aufklärung der Creatin-Phosphokinase, ihre diagnostische Verwendung und die verschiedenen Methoden zu ihrer Aktivitätsbestimmung gegeben. Außerdem wurden verschiedene Aussagen über die Haltbarkeit des Enzyms auch im Verhältnis zu anderen klinisch wichtigen Serum-Enzymen miteinander verglichen. Bei der Methode zu den eigenen Untersuchungen wurde die Empfindlichkeit der "Biochemica-Test-Combination" von BOEHRINGER, einem UV-Test, durch Erhöhung der Untersuchungstemperatur von 25° C auf 37° C um das 2,4-fache gesteigert.

Bei 23 männlichen und bei 16 weiblichen Normalpersonen betrugen die CPK-Aktivitäten im Serum mit dieser Methode $\bar{x} \pm 2\sigma = 0,95 \pm 1,16$ uMol/1000ml/min bzw. $\bar{x} \pm 2\sigma = 0,93 \pm 0,96$ uMol/1000ml/min. Die Werte waren in der gleichen Größenordnung mit denen von RICHTERICH und ROSSI (9), die die gleiche Untersuchungstemperatur und eine ähnliche Testzusammensetzung benutzt hatten. Die CPK-Aktivität im Serum bei Männern und Frauen war annähernd gleich.

Bei 28 stationären Patienten war die CPK-Aktivität im Serum bei strenger Bettruhe im Verhältnis zu den Normalpersonen um mehr als die Hälfte erniedrigt. Der Wert betrug $\bar{x} \pm 2\sigma = 0,40 \pm 0,82$ uMol/1000ml/min.

Bei sieben Patienten wurde die CPK-Aktivität im Serum am Aufnahmetag in die Klinik gemessen und nach fünftägiger strenger Bettruhe die CPK-Aktivitätsbestimmung wiederholt. Die CPK-Aktivitätsabnahme betrug mehr als 50 % im Vergleich zum Ausgangswert am Aufnahmetag.

Auf Grund obiger Befunde konnte nicht die Art der Erkrankung die Ursache für die niedri-

geren Werte bei stationären Patienten und den Aktivitätsverlust bei stationärer Aufnahme sein, sondern die Ursache dafür ist in der dauernden Bettruhe, in der herabgesetzten Bewegungsmöglichkeit des Patienten, zu suchen.

Bei zehn Personen wurde die Änderung der CPK-Aktivität untersucht, die bei Aufbewahrung des Serums bei 37° C und bei sechs Personen die Aktivitätsänderung, die bei Aufbewahrung des Serums bei Zimmertemperatur auftritt. Beide Gruppen zeigten einen Aktivitätsabfall der CPK im aufbewahrten Serum. Bis zur achten Stunde nach der Blutabnahme wurde aber auch ein Aktivitätsanstieg beobachtet. Dieser Vorgang ist in der uns bekannten Literatur bisher nicht beschrieben worden.

Bei 20 Vergleichsmessungen wurde festgestellt, daß man zum Teil über die Fehlerbreite des Tests (± 5 %) hinausgehende unterschiedliche Aktivitäten der CPK erhält, wenn man das Serum von gleichen Personen gleichzeitig in Eiswasser oder in Wasser von 25° C aufgetaut hat, nachdem das Serum bei -20° C mehrere Tage eingefroren gewesen war.

Bei fünf Personen wurde die Aktivitätsänderung der CPK bei Aufbewahrung des Serums in Eiswasser und bei weiteren fünf Personen die Aktivitätsänderung bei Aufbewahrung des Serums in der Kühltruhe (-20° C) untersucht. Bei 114 Seren, die ebenfalls bei -20° C eingefroren waren, wurden durch Stichproben die Aktivitätsänderung bis zu einem Zeitraum von 55 Tagen nach dem Einfrieren bestimmt.

Aktivitätsänderungen der CPK wurden bei allen Aufbewahrungsarten gefunden, nämlich Abnahmen aber auch Erhöhungen der CPK-Aktivität. Vergleicht man die Absolutwerte der Aktivitätsänderungen bei Seren mit normaler CPK-Aktivität, so lagen alle Werte nach der Aufbewahrung des Serums, auch die, bei denen eine Aktivitätssteigerung aufgetreten war, innerhalb der 2 σ -Grenze. Pathologisch konnten aber die Werte werden, die ursprünglich an der oberen Grenze der Norm lagen und wo das Serum in Eiswasser oder bei -20° C aufbewahrt wurde.

In der Diskussion wurde erwogen, ob die CPK-Aktivitätssteigerungen, die durch Aufbewahrung des Serums entstanden waren, durch den Zerfall von Inhibitoren oder mit dem Entstehen von Substanzen mit freien Sulfhydrylgruppen, die aktivierend wirken, verursacht worden sind.

Die Bestimmung der CPK-Aktivität sollte sofort nach der Gerinnung des Blutes und Abtrennung des Serums vorgenommen werden, da erstens bei Aufbewahrung des Serums bei 37° C und bei Zimmertemperatur erhöhte Werte durch Aktivitätsverlust nicht bemerkt, zweitens bei Aufbewahrung des Serums in Eiswasser oder in der Kühltruhe (-20° C) erhöhte Werte durch Aktivitätsverlust übersehen und drittens pathologische Werte durch Aktivitätssteigerung vorgetäuscht werden könnten.

Mit der beschriebenen, verfeinerten Methode zum Nachweis der CPK im Serum (Normalwerte von 0 - 2 µMol/1000ml/min) wurden auch bei Patienten mit Hyper- oder Hypothyreose und bei Patienten mit Hypogonadismus die CPK-Aktivität im Serum bestimmt. Im Gegensatz zu GRAIG und SMITH (18) aber in Übereinstimmung mit GRAIG und ROSS (17) und HESS (20) wurden bei fünf Patienten mit Hypothyreose nur zwei mit deutlich erhöhter CPK-Aktivität im Serum gefunden, es bestand auch kein Zusammenhang zwischen CPK-Aktivität und der Substitutionstherapie.

Normalwerte hatten dagegen drei Patienten mit leichter Hyperthyreose und vier mit Hypogonadismus.

LITERATURVERZEICHNIS

1. Amelung, D.; Hofmann, L.; Otto, L.: Untersuchungen zur Haltbarkeit der Fermentaktivität im Serum. Deutsche Medizinische Wochenschrift 1 8, 851, Mai 1966.

2. Askonas, B.A.: The use of organic solvents at low temperature for the separation of enzymes. Application to aqueous muscle extract. Biochem. J. 48, 42, 1951.

3. Banga, I.: The adenosinetriphosphoric acidcreatine phosphorease. Stud. Inst. med. Chem. Szeged 3, 59, 1943.

4. Biochemica- Boehringer, Mannheim: Bestimmung der Aktivität der Creatin-Phospho-Kinase im Serum (UV-Test mit NADH).

5. Burger, A.; Eppenberger, M.; Wiesmann, V. und Richterich, R.: Isoenzym der Creatin-Kinase. Helv. Physiol. Acta 21, 6 - 10, 1963

6. Burger, H.; Richterich, R. und Aebi, H.: Die Heterogenität der Creatin-Kinase. Biochem. Z. 339, 305 - 314, 1964.

7. Chappel, J.B.; Perry, S.V.: Creatine Phosphokinase: Assay and Application for the Micro-determination of the Adenine Nucleotides. Biochem. J. 57, 421, 1954.

8. Cho, A.K.; Haslett, W.L.; and Jenden, D.J.: Titrimetric Method for the determination of Creatin Phosphokinase. Biochem. J. 75, 115, 1960.

9. Colombo, J.P.; Richterich, R. und Rossi, E.: Serum-Creatin-Phospho-Kinase: Bestimmung und diagnostische Bedeutung. Klinische Wochenschrift 40, 37 - 44, Januar 1962.

10. Dreyfus, J.Cl. et al.: La Creatine Kinase Serique dans le Diagnostic de L´Infarctus Myocardique. Rev. Franc. Clin. Biol. 5, 384 - 386, 1960.

11. Duma, R.; Siegel, A.L.: Serum Creatine Phosphokinase in akute myocardial Infarction Diagnostic Value. Arch. Intern. Med. Vol. 115, April 1965.

12. Ebashi, S. et al.: High Creatine Phosphokinase Activity of Sera of Progressive Muskular Dystrophy. J. Biochem. (Tokyo) 46, 103 - 104, 1959.

13. Eggleton, P.; Elsden, S.R.; Gough, N.: The Estimation of Creatine and of Diacetyl. Biochem. J. 37, 526, 1943.

14. Ennor, A.H.; Stocken, L.A.: The Application of the Diacetyl Reaction to the Estimation of Creatine in Urine. Biochem. J. 55, 310, 1953.

15. Ennor, A.H.; Rosenberg, H.: Some Properties of Creatine Phosphokinase. Biochem. J. 57, 203, 1954.

16. Eppenberger, H.M.; Richerich, R.; Aebi, H.: The Ontogeny of Creatine Kinase Isozymes. Developmental Biology. 10, 1 - 16, Aug. 1964.

17. Graig, F.; Ross, G.: Serum Creatine Phosphokinase in Thyroid Disease. Metabolism 12, 57 - 59, 1963.

18. Graig, A.F.; Smith, J.C.: Serum Creatine Phosphokinase Aktivity in Altered Thyroid States. J Clin Endocrin. 25, 723, 1965.

19. Hess, J.W.; Mac Donald, R.P.: Serum creatine phosphokinase aktivity: a new diagnostic aid in myocardial and skeletal muscle disease.: J. Michigan Med. Soc. 62, 1095 - 1099, 1963.

20. Hess, J.W.; Mac Donald, R.P.; Frederick, R.J.; Jones, R.W.; Nuly, J. and Gross, D.: Serum Creatine Phosphokinase Aktivity in Disorders of Heart and

Skeletal Muscle Ann. Int. Med. 61, 1015 - 1028, 1964.

21. Hughes, B.P.: A Method for Estimation of Serum Creatine Kinase and its Use in Comparing Creatine Kinase and Aldolase Activity in Normal and Pathological Sera Clin Chim Acta. 7, 597 - 603, 1962.

22. Kaffarnik, H.; Klaus, D.: Adenylatkinase, Adenosintriphosphat-Phosphatase und Creatinphosphokinase im Serum von Gesunden und Kranken. Ärztliche Forsch. 16, 361, 1962.

23. Kuby, S.A.; Noda, L.; Lardy, H.A.: Adenosintriphosphate-creatine transphosphorylase. I. Isolation of the crystalline Enzyme from rabbit muscle. J. biol. Chem. 209, 191, 1954.

24. Lehmann, H.: Über die enzymatische Synthese der Creatin-Phosphorsäure durch Umesterung der Phosphobrenztraubensäure. Biochem. Z. 281, 271, 1935.

25. Lohmann, K.: Über die enzymatische Aufspaltung der Kreatin-phosphorsäure; zugleich ein Beitrag zum Chemismus der Muskelkontraktion. Biochem. Z. 271, 264, 1934.

26. Mahowald, T.A.; Noltmann, E.A.; Kuby, S.A.: Studies an Adenosine Triphosphate Transphosphorylases. III. Inhibition Reactions. J. Biol. Chem. 237, 1535, 1962.

27. Nielsen, L.; Ludvigsen, B.: Improved method for determination of creatine kinase. J Lab Clin Med. 62, 159, 1963.

28. Noltmann, E.A.; Mahowald, T.A.; Kuby, S.A.: Studies on Adenosine Triphosphate Transphosphorylase. II. Amino Acid Composition of Adenosine Triphosphate-Creatine Transphosphorylase. J biol. Chem. 237, 1146, 1962.

29. Okinaka, S.; et al.: Serum Creatine Phosphokinase Activity in Progressive Muskular Dystrophy and Neuromuskular Diseases. Arch. Neurol. 4, 520 - 525, 1961.

30. v. Oldershausen, H.F.; Lüttje, A.; Eggstein, M.; und Iymo, E.: Zur Enzymdiagnostik von Muskelaffektionen bei Intoxikationen und Infektionskrankheiten. Med. Welt. 24, 1350 - 1, Jun 1965.

31. Oliver, J.T.: A Spectrophotometric Method for the Determination of Creatine Phosphokinase and Myokinase. Biochem J. 61, 116, 1955.

32. Perry, S.V.: Creatine Phosphokinase and the Enzymic and Contractile Properties of the Isolated Myofibril. Biochem. J. 57, 427, 1954.

33. Preston, J.A.; Batsakis, J.G.; Briere, O.R.; Taylor, R.V.: Serum Creatine Phosphokinase. A Clinical and Laboratory Evaluation. Amer. J. clin. Patz. 44, 71, 1965.

34. Pyorala, K.; et al.: Serum Enzymes After Cardiac Surgery. Acta Med Scand. 174, 361 - 374, 1963.

35. Rotthauwe, H.W.; Zurukzoglu-Sklavounou, S.; Hamman, H.: Untersuchungen zur Methodik der Aktivitätsbestimmung der Kreatinphosphokinase. Klin. Wschr. 39, 1269, 1961.

36. Rotthauwe, H.W.; Cerqueiro, M.: Die Haltbarkeit der Serum Kreatin-Phosphokinase. Klin. Wschr. 41, 876 - 8, 1963.

37. Sorenson, N.: Creatine Phosphokinase in Diagnosis of Myocardial Infarction. Acta Med Scand. 174, 725 - 734, 1963.

38. Stein, Ph.; Lamprecht, W.: Verbesserte Methode zur Messung der CPK-Aktivität in Gewebsextrakten und Serum Klin. Wschr. 40, 177, 1962.

39. Stich, W.; Tsirimbas, A.: Der Kreatinphospho-Kinase Test. Eine neue enzymologische Methode zur biochemischen Diagnose des Herzinfarkts. Klin. Wschr. 40, 115 - 116, 1962.

40. Strehler, B.L.; Totter, J.R.: Firefly Luminescence in the Study of Energy Transfer Mechanismus. I. Substrate and Enzyme Determination. Arch. Biochem. 40, 28, 1952.

41. Sjövall, K.; Voigt, A.: Creatine phospho-transferase Isozymes Nature (London) 202, 701, May 1964.

42. Tanzer, M.L.; Gilvary, C.: Creatine and Creatine Kinase Measurement. J. biol. chem. 234, 3201, 1959.

43 Welti, J.J.; et al.: Intéret de l´ Etude de la Créatine-Kinase Sérique pour le Diagnostic d´ Infarctus du Myocarde Bull Soc Med Hop Paris, 113, 569, 1962.

44. Wood, T.: Adenosine Triphosphate- Creatine Phosphotransferase from Ox Brain. Purification and Isolation. Biochem. J. 87, 453, 1963.

Abkürzungen:

C: Creatin, CP: Creatin-Phosphat, CPK: Creatin-Phospho-Kinase, HK: Hexo-Kinase, G-6-PDH: Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase, PK: Pyruvat-Kinase, LDH: Lactat-Dehydrogenase, ATP und ADP: Adenosin-Tri- und Diphosphat, PEP: Phospho-Enol-Pyruvat, pyr: pyruvat, lac: lactat, G: Glucose, G-6-P: Glucose-6-Phosphat, 6-PG: 6-Phosphogluconat, NADP und NADPH: Nicotinamid-Adenosin-Dinucleotid-Phosphat in oxidierter und reduzierter Form, NAD und NADH: Nicotinamid-Adenosin-Dinucleotid in oxidierter und reduzierter Form.

Für die Anregungen, die ich während dieser Arbeit erhalten habe, danke ich Herrn Dr. med. J. Karl, Herrn Dr. med. L. Raith und Herrn Dr. med. A. Tsirimbas.

LEBENSLAUF

Am 24. April 1942 wurde ich als Sohn und zweites Kind des Sonderschulrektors Ludwig Goldschmidt und seiner Ehefrau Hanna geb. Ruser in Freiburg geboren. Ich wuchs in Lörrach auf, wo ich auch heute noch zu Hause bin. Am 8. März 1961 legte ich am Hans-Thoma-Gymn. in Lörrach die Reifeprüfung ab. Nach dem Abitur leistete ich 18 Monate Wehrpflicht und verließ das Militär als Leutnant d.R.. Mit dem Wintersemester 1962/63 begann ich das Medizinstudium in Freiburg, wo ich am 24. Oktober 1963 das Vorphysikum und am 13. April 1965 das Physikum ablegte. Seit dem Sommersemester 1965 studiere ich in München. Famuliert habe ich an der I. Medizinischen Klinik in München, im Bw-Lazarett in Kempten und am Städt. Krankenhaus in Lörrach. Außerdem arbeitete ich sehr viel in den Semesterferien in der Med. Universitäts-Klinik in Basel.
Das Staatsexamen für Medizin bestand ich am 25.6.1968 in München.